

III. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat

Kegiatan penelitian dilakukan pada bulan November 2018 sampai Maret 2019 yang bertempat di Unit Produksi Pusat Pengembangan Bioteknologi, Lahan Terpadu Fakultas Pertanian-Peternakan Universitas Muhammadiyah Malang dan Laboratorium Agroteknologi Fakultas Pertanian-Peternakan Universitas Muhammadiyah Malang Jalan Tlogomas No. 246, Tlogomas, Lowokwaru, Kota Malang, Jawa Timur.

3.2 Alat Dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu alat pengepres, cangkul, timbangan analitik, spatula, autoklaf, cincin dan log baglog, kompor, kumbung, alat tulis, alat dokumentasi, timbangan analitik, pipet tetes, pipet ukur, labu erlenmeyer, rotary evaporator, spektrofotometer, kertas saring Whatman No.01, oven, dan sentrifuge.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu serbuk kayu gergaji, kompos azolla, kotoran kambing, bekatul, kapur, 4 jenis bibit jamur hasil eksplorasi di alam, spirtus, kertas label, sarung tangan, masker, plastik PP ukuran 1 kg, kertas millimeter, etanol, methanol, dan *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl* (DPPH).

3.3 Rancangan Penelitian

Penelitian tentang pengaruh media tanam terhadap pertumbuhan dan senyawa antioksidan beberapa jenis jamur hasil eksplorasi menggunakan

Rancangan Acak Lengkap Faktorial dengan dua faktor perlakuan, yaitu macam media tanam dan jenis jamur hasil eksplorasi.

Faktor I:

M1: Serbuk gergaji 70% + bekatul 22,5% + kapur 6% + kalsium 1,5%




M2: Kotoran kambing 5,3% + serbuk gergaji 64,7% + bekatul 22,5% + kapur 6% + kalsium 1,5%

M3: Kompos *Azolla pinnata* 20% + serbuk gergaji 50% + bekatul 22,5% + kapur 6% + kalsium 1,5%

Faktor II:

J1: Jamur P8 ; J2: Jamur PS31 ; J3: Jamur LB7

Tabel 1. Gambar Jamur Eksplorasi

No.	Kode Jamur	Gambar
1.	P8 (Pasinan)	
2.	PS31 (Petung Sewu)	
3.	LB7 (Lemah Bang)	

Sumber: Bahaudin, 2018.

Kedua faktor tersebut dikombinasikan menjadi 9 kombinasi perlakuan dan diulang sebanyak 3 kali dan setiap ulangan terdiri dari 4 baglog. Berikut adalah kombinasi perlakuan dari faktor 1 dan faktor 2:

M1J1 = Serbuk gergaji 70% + bekatul 22,5%, + kapur 6% + kalsium 1,5% + jamur P8

M1J2 = Serbuk gergaji 70% + bekatul 22,5%, + kapur 6% + kalsium 1,5% + jamur PS31

M1J3 = Serbuk gergaji 70% + bekatul 22,5%, + kapur 6% + kalsium 1,5% + jamur LB7

M2J1 = Kotoran kambing 5,3% + serbuk gergaji 64,7% + bekatul 22,5%, + kapur 6% + kalsium 1,5% + jamur P8

M2J2 = Kotoran kambing 5,3% + serbuk gergaji 64,7% + bekatul 22,5%, + kapur 6% + kalsium 1,5% + jamur PS31

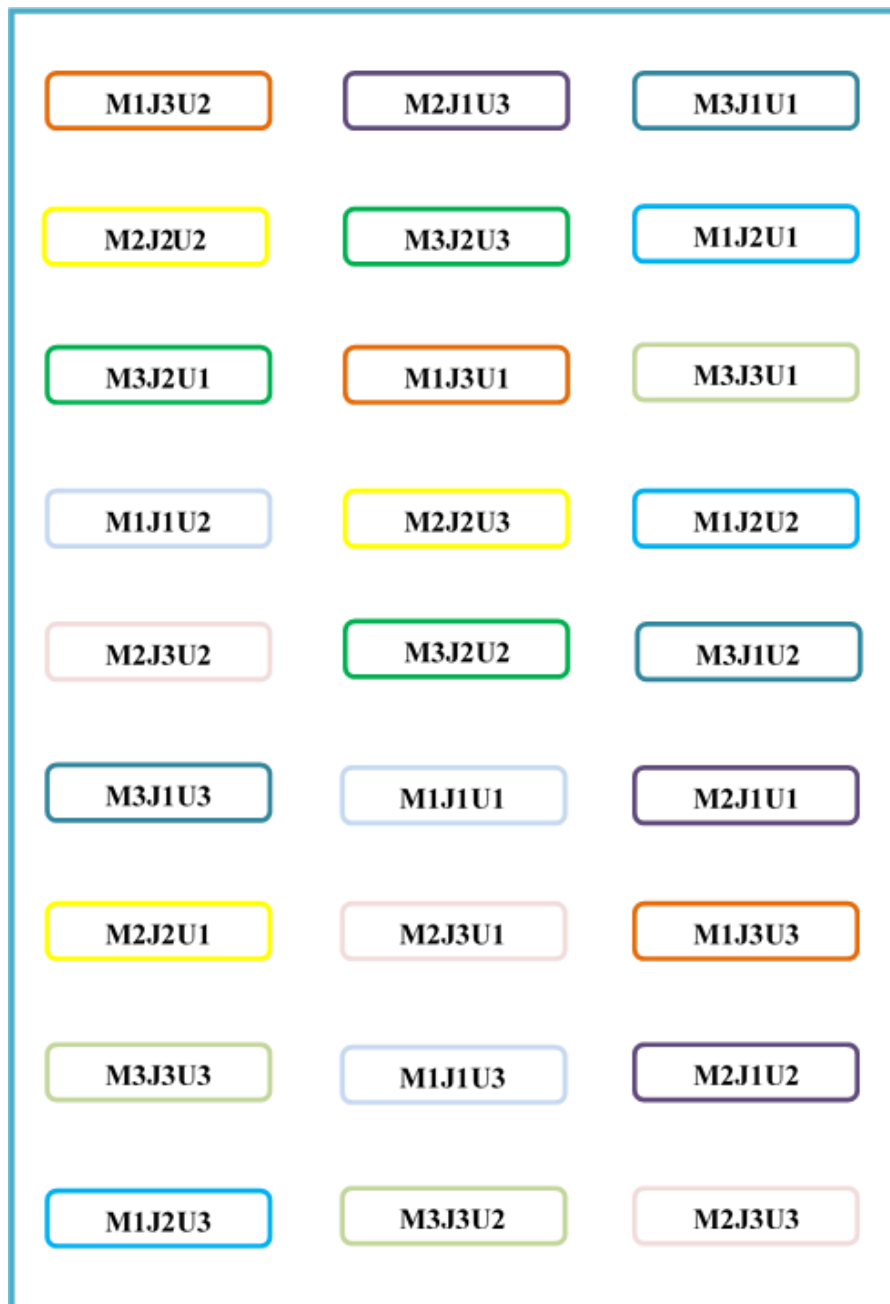
M2J3 = Kotoran kambing 5,3% + serbuk gergaji 64,7% + bekatul 22,5%, + kapur 6% + kalsium 1,5% + jamur LB7

M3J1 = Kompos *Azolla pinnata* 20% + serbuk gergaji 50% + bekatul 22,5%, + kapur 6% + kalsium 1,5% + jamur P8

M3J2 = Kompos *Azolla pinnata* 20% + serbuk gergaji 50% + bekatul 22,5%, + kapur 6% + kalsium 1,5% + jamur PS31

M3J3 = Kompos *Azolla pinnata* 20% + serbuk gergaji 50% + bekatul 22,5%, + kapur 6% + kalsium 1,5% + jamur LB7

3.4 Denah Percobaan

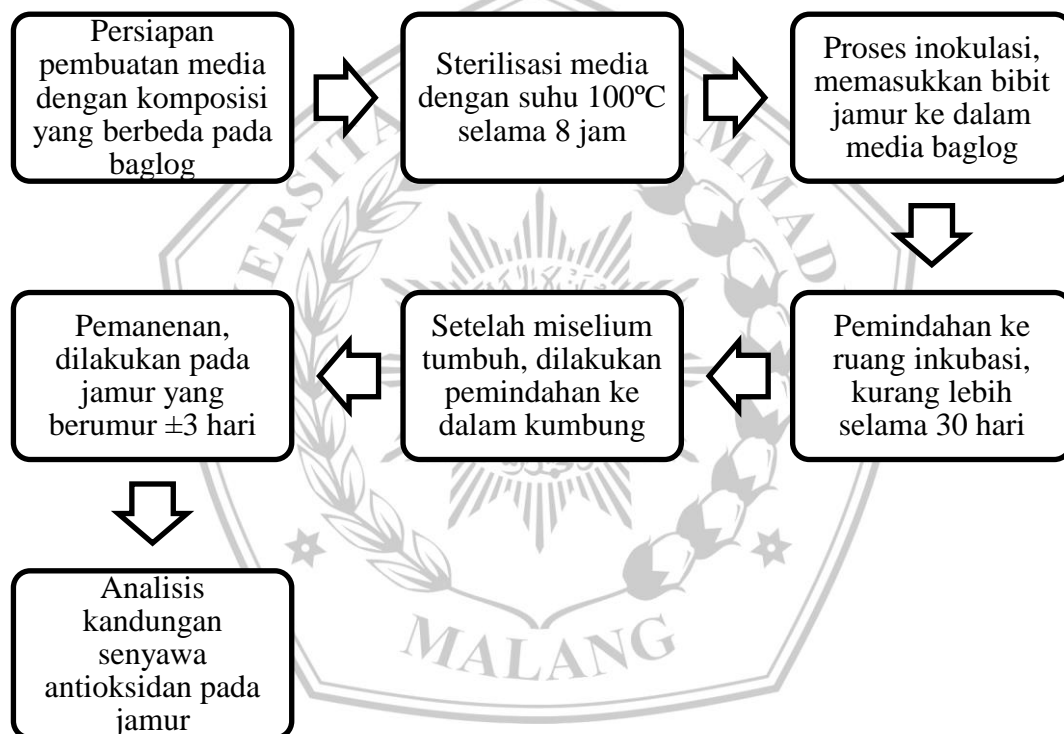


Gambar 2. Denah Percobaan Pertumbuhan Jamur

Keterangan : M1 = Media 1 (Serbuk gergaji 70% + bekatul 22,5%, + kapur 6% + kalsium 1,5%); M2 = Media 2 (Kotoran kambing 5,3% + serbuk gergaji 64,7% + bekatul 22,5%, + kapur 6% + kalsium 1,5%); M3 = Media 3 (Kompos *Azolla pinnata* 20% + serbuk gergaji 50% + bekatul 22,5%, + kapur 6% + kalsium 1,5%); J1 = Jamur P8; J2 = Jamur PS31; J3 = Jamur LB7

3.5 Pelaksanaan Penelitian

Pelaksanaan penelitian dimulai dari persiapan pembuatan macam media dengan komposisi yang berbeda, kemudian di sterilisasi dengan suhu diatas 100°C selama 8 jam. Dimasukkan ke dalam ruang inokulasi untuk menanam jamur, lalu dipindah ke ruang inkubasi 30 hari. Kemudian dipindahkan ke kumbung setelah miselium memenuhi media, dan diamati perbedaan pertumbuhan pada masing-masing media, serta menguji kandungan senyawa antioksidan.



Gambar 2. Tahapan Penelitian

3.5.1 Pembuatan Media Baglog



Gambar 3. Pembuatan Media Baglog

Pembuatan media dimulai dengan mengayak serbuk gergaji yang akan digunakan agar serpihan serbuk gergaji yang besar tidak tercampur dalam media. Mencampurkan bahan yang akan digunakan menjadi satu dengan menggunakan sekop, kemudian ditambahkan air hingga kandungan airnya sebesar 60%. Setelah tercampur kemudian media di komposkan selama 2 hari terlebih dahulu, setelah itu dimasukkan ke dalam plastik PP dengan menggunakan alat, dan diberi cincin untuk menutupnya.

3.5.2 Sterilisasi



Gambar 4. Sterilisasi Baglog dalam Drum

Sterilisasi media dilakukan dalam drum yang telah diisi dengan air, kemudian baglog dimasukkan kedalam drum yang dipanaskan dengan suhu 100°C

selama 8 jam. Sterilisasi ini dilakukan dengan menggunakan uap dalam drum yang berguna untuk menekan pertumbuhan organisme pengganggu. Menurut Sukasih dalam Sari (2015), proses pemanasan dengan suhu yang terlalu tinggi dan waktu yang terlalu lama dapat merusak nutrisi, demikian sebaliknya apabila proses sterilisasi dengan suhu yang terlalu rendah dan waktu yang terlalu singkat dapat menyebabkan kontaminasi pada media karena masih terdapat mikroorganisme yang bersifat patogen yang belum terbunuh. Menurut Desna (2010), sterilisasi dengan suhu lebih dari 95°C selama 8 jam memperoleh hasil produksi jamur tiram dengan rata-rata efisiensi terbaik yaitu 59,57% dibandingkan dengan lama 6 jam dan 10 jam berturut-turut hasilnya adalah 40,74% dan 53,14%.

3.5.3 Inokulasi



Gambar 5. Inokulasi Bibit Jamur

Inokulasi merupakan proses memasukkan bibit jamur ke dalam media baru yang dilakukan dalam kondisi steril. Pada proses inokulasi harus menjaga semuanya dalam keadaan steril, mulai dari ruangan, peralatan, hingga pakaian. Inokulasi dilakukan setelah media tanam yang telah di sterilisasi dingin, karena jika menanam bibit dengan kondisi baglog masih panas akan menyebabkan bibit yang ditanam menjadi mati.

Inokulasi dilakukan dengan membuka penutup baglog kemudian memasukkan bibit jamur kedalam media tanam dengan menggunakan spatula. Spatula yang akan dipakai direndam terlebih dahulu kedalam alkohol 90% lalu dipanaskan dengan bunsen. Setelah bibit jamur dimasukkan ke dalam baglog, kemudian baglog ditutup kembali dengan kertas yang dipanaskan diatas bunsen terlebih dahulu, lalu diikat dengan karet.

3.5.4 Inkubasi



Gambar 6. Inkubasi Baglog

Baglog yang berisi bibit diletakkan pada ruangan inkubasi kurang lebih selama 30 hari atau sampai miselium jamur memenuhi baglog dengan intensitas cahaya yang rendah. Pengukuran panjang miselium dilakukan saat baglog berada di ruang inkubasi. Pada proses inkubasi ini, hanya menunggu sampai miselium jamur yang ditanam memenuhi plastik. Lamanya pertumbuhan miselium jamur P8 antara 19-20 hari setelah inokulasi. Setelah miselium memenuhi plastik, dipindahkan ke ruang produksi dengan membuka tutup kantong plastik dan menyemprot air secara teratur.

3.5.5 Pemanenan

Pemanenan jamur P8 dilakukan setelah tubuh buah tumbuh dan mengering. Pemanenan dilakukan pada 87-89 hari setelah inokulasi, atau 40 hari setelah munculnya primordia pada jamur P8. Menurut Hidayah dkk (2017), panen dilakukan dengan cara mencabut seluruh rumpun jamur yang ada, hingga tidak ada bagian jamur yang tertinggal pada media baglog.



Gambar 7. Pemanenan Jamur

3.6 Uji Kapasitas Antioksidan

Kandungan antioksidan pada jamur ditentukan dengan menggunakan uji DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl*). Analisis DPPH dilakukan mengikuti prosedur yang dijelaskan oleh (Saeed, *et al.*, 2012).

3.6.1 Ekstraksi



Gambar 8. Ekstraksi Jamur P8

Ekstraksi dilakukan menurut metode Susanto (2018) dengan modifikasi. Menimbang sampel (tepung jamur) dimasukkan kedalam labu erlemeyer, selanjutnya direndam dengan pelarut etanol absolute (perbandingan b/v = 1 : 5), kemudian diaduk selama 1 menit dan diinkubasi selama 24 jam. setelah 24 jam, pelarut yang lama disaring dengan kertas penyaringan whatman No 1. dan dikumpulkan menjadi satu. Simplisia yang tersisa direndam kembali (remaserasi) dengan pelarut yang baru dilakukan remaserasi sebanyak 2 kali, hasil dua ekstrak digabungkan.

Ekstrak yang diperoleh dipekatkan dengan menggunakan rotary evaporator pada suhu 40°C dan tekanan 400 mmHg (Ginting dalam Sadsetyo, 2017). Ekstrak pekat kemudian dikeringkan menggunakan oven dan dihitung rendemennya berdasarkan persamaan dibawah ini:

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{Jumlah ekstrak yang dihasilkan}}{\text{Jumlah bahan sebelum diekstrak}} \times 100\%$$

3.6.2 Analisis 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH)

3.6.2.1 Pembuatan Larutan DPPH

8 mg DPPH dilarutkan dalam 10 ml methanol, kemudian tambahkan sampai batas 100 ml menggunakan methanol.

3.6.2.2 Preparasi Sampel

Sebanyak 5 g sampel jamur dilarutkan dalam 100 ml air mendidih, kemudian dibiarkan kurang lebih 5 menit. Sampel disaring sampai padatan hilang.

3.6.2.3 Uji Aktivitas Antioksidan



Gambar 9. Uji Aktivitas Antioksidan

Uji Aktivitas Antioksidan menggunakan *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl* (DPPH) dilakukan pada 3 sampel ekstrak jamur dari masing-masing perlakuan. 3 ml DPPH dimasukkan dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 100 μ l sampel. Dikocok hingga 30 menit dalam gelap. Hasil inkubasi diukur pada 517 nm.

3.6.3 Metode Pengolahan Data

Pengolahan data dilakukan dengan menggunakan evaluasi signifikansi statistik ditentukan oleh ANOVA, diikuti oleh uji BNJ. Tingkat signifikansi ditetapkan pada $p < 0,05$ (tingkat kepercayaan statistik 95%).

3.7 Parameter Pengamatan

Pada fase pertumbuhan jamur dilakukan pengamatan meliputi:

1. Persentase Pertumbuhan Miselium

Pengamatan dilakukan dengan mengukur tinggi miselium setiap 6 hari sekali setelah inokulasi sampai miselium memenuhi media baglog

$$\% \text{ Pertumbuhan miselium} = \frac{\text{Panjang miselium yang tumbuh (cm)}}{\text{Tinggi media tumbuh}} \times 100\%$$

2. Pertama Muncul Primordia (HSI)

Pengamatan dilakukan dengan menghitung hari setelah miselium memenuhi media

3. Umur Panen (HSI)

Pengamatan dilakukan dengan menghitung hari pada saat pertama kali jamur di panen

4. Berat Basah (g)

Pengamatan dilakukan dengan menimbang berat setelah jamur di panen dan dibersihkan

5. Berat Kering (g)

Pengamatan dilakukan dengan menimbang berat setelah jamur segar diangin-anginkan sampai setengah kering sekitar 3-4 jam. Selanjutnya jamur diletakkan diatas nampan, dan di oven pada suhu 40°C selama 2 hari (Widyastuti dkk, 2015)

3.8 Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis menggunakan uji BNJ taraf $\alpha 5\%$ dilakukan untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan. Uji BNJ dilakukan menggunakan prog Minitab 17.